



# 中华人民共和国国家标准

GB ××××-××××

## 饲料添加剂 第5部分：微生物 德氏乳杆菌乳酸亚种

Feed additives —Part 5: Live microorganisms —*Lactobacillus delbrueckii*  
*subsp.lactis*

(报批稿)

2021 - XX - XX 发布

2021 - XX - XX 实施

国家市场监督管理总局

国家标准化管理委员会

发布

## 前 言

本文件按照 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

GB 7300《饲料添加剂》分为以下13个部分：

- 第1部分：氨基酸、氨基酸盐及其类似物；
- 第2部分：维生素及类维生素；
- 第3部分：矿物元素及其络（螯）合物；
- 第4部分：酶制剂；
- 第5部分：微生物；
- 第6部分：非蛋白氮；
- 第7部分：抗氧化剂；
- 第8部分：防腐剂、防霉剂和酸度调节剂；
- 第9部分：着色剂；
- 第10部分：调味和诱食物质；
- 第11部分：粘结剂、抗结块剂、稳定剂和乳化剂；
- 第12部分：多糖和寡糖；
- 第13部分：其他。

本文件属于 GB 7300《饲料添加剂》的第5部分。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中华人民共和国农业农村部提出并归口。

## 饲料添加剂 第 5 部分：微生物 德氏乳杆菌乳酸亚种

### 1 范围

本文件规定了饲料添加剂德氏乳杆菌乳酸亚种的术语和定义、产品的技术要求、取样、试验方法、检验规则、标签、包装、运输、贮存和保质期。

本文件适用于以德氏乳杆菌乳酸亚种为菌种，经液态发酵、干燥等工艺后制得的饲料添加剂产品。

### 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 5917.1	饲料粉碎粒度测定 两层筛筛分法
GB/T 6435	饲料中水分的测定
GB/T 8170	数值修约规则与极限数值的表示和判定
GB 10648	饲料标签
GB 13078	饲料卫生标准
GB/T 13079	饲料中总砷的测定
GB/T 13080-2018	饲料中铅的测定 原子吸收光谱法
GB/T 13081	饲料中汞的测定
GB/T 13082	饲料中镉的测定方法
GB/T 13091	饲料中沙门氏菌的检测方法
GB/T 13092	饲料中霉菌总数测定方法
GB/T 13093	饲料中细菌总数的测定
GB/T 14699.1	饲料 采样
GB/T 17480	饲料中黄曲霉毒素 B <sub>1</sub> 的测定 酶联免疫吸附法
GB/T 18869	饲料中大肠菌群的测定
GB/T 28716	饲料中玉米赤霉烯酮的测定 免疫亲和柱净化-高效液相色谱法
GB/T 30956	饲料中脱氧雪腐镰刀菌烯醇的测定 免疫亲和柱净化-高效液相色谱法

### 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

#### 3.1

**德氏乳杆菌乳酸亚种** *Lactobacillus delbrueckii subsp.lactis strain*

属于细菌界厚壁菌门芽胞杆菌纲乳杆菌目乳杆菌科乳杆菌属，为革兰氏阳性杆菌，菌体长杆状，趋向于呈线性；不运动；菌落通常粗糙，白色到浅灰色。厌氧或兼性厌氧，化能异养，同型发酵产生 D(一)

乳酸。

#### 4 技术要求

##### 4.1 原料

载体和稀释剂品种来自《饲料原料目录》或《饲料添加剂品种目录》，并符合GB 13078中有毒有害物质及微生物的限量要求。

##### 4.2 外观与性状

产品为粉末或颗粒，形态、色泽均匀一致，无异物，无异臭味。

##### 4.3 菌种鉴别

应符合德氏乳杆菌乳酸亚种（*Lactobacillus delbrueckii subsp.lactis*）的形态、生理生化和分子生物学特性（按附录A执行）。

##### 4.4 技术指标

应符合表1的规定。

表1 技术指标

项目	指标
德氏乳杆菌乳酸亚种活菌计数/（CFU/g） <sup>a</sup>	$\geq 1.0 \times 10^9$
水分/（%）	$\leq 10.0$
细度（2.0 mm 标准筛通过率）/（%） <sup>b</sup>	$\geq 95$
<sup>a</sup> 活菌数以每克产品中菌落形成单位（colony-forming units, CFU）表示。	
<sup>b</sup> 仅适用于粉状产品。	

##### 4.5 卫生指标

应符合表2的规定。

表2 卫生指标

项目	指标
总砷/（mg/kg）	$\leq 2.0$
铅/（mg/kg）	$\leq 5.0$
汞/（mg/kg）	$\leq 0.1$
镉/（mg/kg）	$\leq 0.5$
黄曲霉毒素 B <sub>1</sub> /（ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ） <sup>a</sup>	$\leq 10.0$
脱氧雪腐镰刀菌烯醇/（mg/kg） <sup>a</sup>	$\leq 1.0$
玉米赤霉烯酮/（mg/kg） <sup>a</sup>	$\leq 0.1$
大肠菌群/（MPN/g）	$\leq 10$
霉菌总数/（CFU/g）	$\leq 1.0 \times 10^4$
沙门氏菌/（25 g）	不得检出
<sup>a</sup> 此类指标仅适用于植物性载体生产的产品。	

表中所列限量，除特别说明外均以干物质含量 88%为基础计算（大肠菌群、霉菌总数、沙门氏菌除外）。

## 5 取样

### 5.1 采样原则

样品的采集应遵循随机性、代表性的原则，采样过程应遵循无菌采样要求，防止一切可能的外来污染。

### 5.2 采样方法

5.2.1 应在同一批次产品中采集样品，每件样品的采样量应满足微生物指标检验的要求，一般不少于 500 g。

5.2.2 独立包装小于、等于 500 g 的产品，取完整包装。

5.2.3 独立包装大于 500 g 的产品，应用无菌采样器从同一包装的不同部位分别采取适量样品，放入同一个无菌采样容器内作为一件样品。

### 5.3 采集样品的贮存和运输

5.3.1 应尽快将样品送往实验室检验。

5.3.2 应在运输过程中保持样品完整。

5.3.3 应在接近原有贮存温度条件下贮存样品，或采取必要措施防止样品中微生物数量的变化。

## 6 试验方法

### 6.1 感官检验

取适量试样置于干净白色纸片上，在自然光下观察其形态、色泽、有无异物，嗅其气味。

### 6.2 活菌计数

按附录B执行。若为包被德氏乳杆菌乳酸亚种产品，应提供溶解方法。

### 6.3 水分

按GB/T 6435执行。

### 6.4 粒度

按GB/T 5917.1执行。

### 6.5 总砷

按GB/T 13079执行。

### 6.6 铅

按GB/T 13080-2018石墨炉原子吸收光谱法执行。

### 6.7 汞

按GB/T 13081执行。

#### 6.8 镉

按GB/T 13082执行。

#### 6.9 黄曲霉毒素 B1

按GB/T 17480执行。

#### 6.10 脱氧雪腐镰刀菌烯醇

按GB/T 30956执行。

#### 6.11 玉米赤霉烯酮

按GB/T 28716执行。

#### 6.12 霉菌总数

按GB/T 13092执行。

#### 6.13 大肠菌群

按GB/T 18869执行。

#### 6.14 沙门氏菌

按GB/T 13091执行。

### 7 检验规则

#### 7.1 组批

以相同材料、相同的生产工艺，经连续生产或同一班次生产的同一规格的产品为一批，但每批产品不应超过50 t。

#### 7.2 出厂检验

外观与性状、德氏乳杆菌乳酸亚种活菌计数、水分为出厂检验项目。

#### 7.3 型式检验

型式检验项目为本文件第4章规定的所有项目。在正常生产情况下，每年至少进行一次型式检验。有下列情况之一时，亦应进行型式检验：

- a) 产品定型投产时；
- b) 生产工艺、配方或主要原料来源有较大改变，可能影响产品质量时；
- c) 停产3个月以上，重新恢复生产时；
- d) 出厂检验结果与上次型式检验结果有较大差异时；
- e) 饲料行政管理部门提出检验要求时。

#### 7.4 判定规则

7.4.1 所验项目全部合格，判定为该批次产品合格。

7.4.2 检验结果中有任何指标不符合本文件规定时，可自同批产品中重新加倍取样进行复检。复检结果即使有一项指标不符合本文件规定，则判定该批产品不合格。卫生指标中的微生物指标不得复检。

7.4.3 除微生物指标外，各项目的指标的极限数值判定按 GB/T 8170 中修约值比较法执行。

## 8 标签、包装、运输、贮存、保质期

### 8.1 标签

标签应符合 GB 10648 的规定。

### 8.2 包装

包装材料应清洁卫生、并能防污染、防潮湿、防泄漏。

### 8.3 运输

运输工具应清洁卫生、能防暴晒、防雨淋，不应与有毒有害的物品混装混运。

### 8.4 贮存

应贮存于干燥、阴凉、通风处，防止日晒、雨淋，不应与有毒有害物质混贮。

### 8.5 保质期

未开启包装的产品，在规定的运输、贮存条件下，产品保质期与标签中标明的保质期一致。

附 录 A  
(规范性)  
德氏乳杆菌乳酸亚种菌种鉴别方法

### A.1 形态鉴别

#### A.1.1 MRS 培养基

##### A.1.1.1 成分

蛋白胨	10.0 g
牛肉粉	5.0 g
酵母粉	4.0 g
葡萄糖	20.0 g
吐温 80	1.0 mL
磷酸氢二钾 ( $K_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ )	2.0 g
乙酸钠 ( $CH_3COONa \cdot 3H_2O$ )	5.0 g
柠檬酸三铵	2.0 g
硫酸镁 ( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ )	0.2 g
硫酸锰 ( $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ )	0.05 g
琼脂粉	15.0 g
蒸馏水	1000 mL
pH 6.2 ± 0.2	

##### A.1.1.2 制法

将各成分加入蒸馏水中，加热不断搅拌，煮沸使琼脂完全溶解，115℃高压灭菌 15 min~20 min。临用时加热使培养基熔化，冷至 45℃~50℃时使用。

##### A.1.2 菌落选择

用接种针或接种环随机挑取 5 个菌落。

##### A.1.3 菌体染色及形态检验

革兰氏染色阳性。菌体细胞呈长杆状，宽度小于 2 μm，趋向于成线状，幼龄时单个或成对。

##### A.1.4 菌落形态

在 MRS 培养基的琼脂平板上菌落生长形态特征为：菌落乳白色到浅灰色，边缘整齐、表面光滑、圆形，直径 3.0 mm ± 1.0 mm。

### A.2 生理生化特征

接种并培养 24 h，进行表 A.1 中各项试验。

表 A.1 德氏乳杆菌乳酸亚种生理生化特征

试验项目	结果	试验项目	结果
七叶苷	+	水杨苷	+
纤维二糖	d	山梨醇	-
麦芽糖	+	蔗糖	+
甘露醇	-	棉子糖	-
接触酶	-		

注： 1. “+”表示为 90% 以上的菌株为阳性反应；“-”表示 90% 以上菌株为阴性反应；“d”表示有些菌株是+，其他菌株是-（约 89%—11% 菌株为阳性）。

2. 除接触酶试验外，其他均为发酵试验。

### A.3 分子生物学鉴定

采用核酸序列分析法对菌株 rRNA 基因中 16S rRNA 全基因序列进行分析，与 GenBank 等国际核酸序列数据库中模式菌株 ATCC12315 的 16S rRNA 基因序列进行同源性比较，序列差异小于 1%，则判定该菌株为德氏乳杆菌乳酸亚种 *Lactobacillus delbrueckii subsp.lactis*。

**附录 B**  
**(规范性)**  
**德氏乳杆菌乳酸亚种活菌计数**

**B.1 试剂****B.1.1 MRS 培养基**

按 A.1.1 制备。

**B.1.2 生理盐水****B.1.2.1 成分**

氯化钠	8.5 g
蒸馏水	1000 mL

**B.1.2.2 制法**

将氯化钠加入蒸馏水中，搅拌溶解，分装，121℃高压灭菌 15 min。

**B.2 样品制备**

在按照 GB/T 14699.1 进行采样基础上，称取 25.0 g 样品，加入 225 mL 无菌生理盐水（对于包被产品，可采用厂家提供的方法进行预处理）中均质。待均匀后，再将样品用无菌溶剂按十倍稀释法制成不同浓度稀释液。取 1.0 mL 合适浓度稀释液，注入无菌平皿，每个稀释度做两个平皿。将融化并冷却至 45℃~50℃的 MRS 培养基，向每个培养皿中倒入约 15 mL~20 mL，摇匀并凝固，制成相应培养基的琼脂平板。36℃±1℃倒置培养 24 h~48 h。空白对照至少为 2 个，以无菌溶剂代替同等质量的样品。

**B.3 菌落计数**

选取 B.2 项中适宜的稀释度、菌落在 30~300 之间的平板进行计数。计算方法和结果输出参考 GB/T 13093。